

Aplicación de bacterias asociadas a plantas para la mejora de estrategias de Fitocorrección de suelos

Petra Kidd, Cristina Becerra Castro, Beatriz Rodríguez Garrido, Vanessa Álvarez López, Maribel Cabello Conejo, María Touceda González, María José Acea Escrich, Ángeles Prieto Fernández

Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (IIAG) del CSIC. Avenida de Vigo s/n. Campus Vida. 15706 Santiago de Compostela Avda. Fuentenueva s/n, 18002 Granada



Algunos miembros del grupo de Microbiología del IIAG-CSIC: De izquierda a derecha, Petra Kidd, Mariana Loureiro Viñas, Beatriz Rodríguez Garrido, Maribel Cabello Conejo, María Touceda González, Lidia Pérez Laxe, Ángeles Prieto Fernández, Marian de Jesús González y María José Acea Escrich.

CONTAMINACIÓN DEL SUELO Y FITOCORRECCIÓN

El incremento del grado de industrialización a nivel mundial ha llevado a la introducción generalizada de contaminantes orgánicos y metales trazas en el medioambiente, provocando problemas de contaminación localizada y difusa del suelo. Las principales actividades antrópicas que han contribuido a la acumulación de contaminantes en suelos incluyen actividades mineras, industrias metalúrgicas y siderúrgicas, uso de pesticidas, fertilizantes y enmiendas del suelo para agricultura intensiva así como la eliminación de basuras urbanas mediante distribución en amplias extensiones de terreno.

En Europa, el incremento de la conciencia del papel crítico que juegan los recursos edáficos para promover la

sostenibilidad medioambiental y el desarrollo económico ha llevado a la elaboración de la Estrategia temática europea sobre la protección del suelo (COM(2006)231). Esta estrategia obliga a los países miembros a poner en funcionamiento planes nacionales para la identificación, seguimiento y restauración de áreas contaminadas en su territorio. Además la UE enfatiza la necesidad de desarrollar tecnologías de descontaminación nuevas y viables que eviten la generación, transporte y eliminación de residuos tóxicos. En España, el Plan Nacional de Recuperación de Suelos Contaminados (PNRSC 1995-2005) (B.O.E. nº 114, 1995) identificó un total de 4531 áreas potencialmente contaminadas y 18142 actividades industriales con riesgo de generar áreas contaminadas.

En las tres últimas décadas se ha producido la emergencia de técnicas de remediación del suelo poco agresivas y

respetuosas con el medio ambiente que emplean diferentes especies vegetales. Estas técnicas se conocen en conjunto con el término fitocorrección o fitorremediación y, en comparación con los métodos convencionales de ingeniería civil, generalmente se consideran menos invasivas, económicamente eficientes y con capacidad de restaurar la estructura y funciones del suelo. Son tecnologías especialmente adecuadas para el tratamiento de áreas extensas en los que los niveles de contaminación no son muy elevados y que sería muy costoso, o incluso inviable, tratar con otro tipo de métodos. La fitocorrección se basa en el uso de plantas y sus microorganismos asociados para eliminar, estabilizar y detoxificar contaminantes. Entre ellas se incluyen la fitoextracción y fitoestabilización (o fitoinmovilización), aplicadas sobre todo al tratamiento de suelos con altos niveles de elementos traza; y la rizorremediación (o fitoestimulación), destinada con frecuencia a los casos de contaminación con compuestos orgánicos.

ACTIVIDADES MÁS DESTACADAS DEL GRUPO EN EL CAMPO DE LA MICROBIOLOGÍA

El grupo de Microbiología del Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia, en los últimos años hemos estado trabajando en la mejora de técnicas de fitocorrección de suelos. Entre nuestros objetivos están la selección de especies, ecotipos o poblaciones vegetales adecuados para el tratamiento de los distintos suelos contaminados con los que trabajamos, así como el estudio de comunidades bacterianas y el aislamiento, caracterización y aplicación de bacterias asociadas a estas plantas (bacterias de la rizosfera, filosfera y endosfera). Prestamos interés sobre todo a cepas bacterianas que pueden ejercer un papel en la movilidad de contaminantes ya que, la biodisponibilidad es uno de los factores que puede afectar

en gran medida a la eficacia de la descontaminación, ya sea porque se mejora su degradación (rizodegradación) o absorción (fitoextracción) o, por el contrario, porque interesa reducir su movilidad (fitoestabilización). También nos interesamos por aquellas cepas con capacidad de promover el crecimiento vegetal (PGPB), dado que el establecimiento y desarrollo de las plantas en suelos contaminados es otro de los problemas que se suele plantear para la aplicación de técnicas de fitocorrección de suelos.

En el campo de la rizodegradación, hemos trabajado en suelos contaminados con un residuo de la producción del insecticida lindano, compuesto sobre todo por este insecticida y otros isómeros de hexaclorociclohexano (HCHs). En estos estudios se consiguieron resultados particularmente satisfactorios empleando una población seleccionada de *Cytisus striatus* y realizando una inoculación combinada con una cepa endófito de *Cytisus* (*Rhodococcus* sp. ET54b) y una cepa degradadora de HCHs (*Sphingomonas* sp. D4). Se pudo observar un incremento del crecimiento de *Cytisus* y/o un aumento de disipación de los contaminantes, así como una importante influencia de la composición del sustrato que se ha de tratar.

En relación con la fitoextracción nos interesamos sobre todo en subespecies del género *Alyssum* hiperacumuladoras de Ni y endémicas de áreas serpentiniticas de la Península Ibérica (Galicia, Trás-os-montes y Andalucía). En estas áreas los suelos tienen unas características muy particulares y se desarrollan estas plantas que son capaces de acumular en su biomasa aérea grandes concentraciones de Ni. En este caso también hemos estudiado las comunidades bacterianas de la rizosfera y realizado el aislamiento y caracterización de cepas bacterianas. Podemos resaltar que se estudiaron dos cepas de *Arthrobacter* sp. LA44 y SBA82 capaces de movilizar Ni a partir de roca serpentinitica rica en este elemento, que probablemente actúan en fases minerales diferentes. Así, mientras que la actividad de LA44 es mayor y parece estar ligada a la producción de oxalato y liberación de Ni ligado a óxidos de magnesio, en el caso de SBA82, la movilización de Ni se asocia con la liberación de Fe y Si y probablemente tiene relación con la producción de sideróforos de esta cepa. La inoculación de *Alyssum* sp. con estas cepas, sobre todo con LA44, permite aumentar la biomasa vegetal y la concentración de Ni en tejidos aéreos. Otros estudios en curso tienen como objetivo analizar con más detalle, empleando herramientas moleculares las comunidades bacterianas asociadas a estas hiperacumuladoras de Ni, así como otros aspectos de la fisiología vegetal relacionados con el proceso de hiperacumulación.

Finalmente, también llevamos a cabo otras experiencias de fitoextracción y fitoestabilización en invernadero y en campo, en las que empleamos distintas especies vegetales seleccionadas y aislados bacterianos previamente caracterizados y continuamos con el aislamiento de cepas bacterianas asociadas a plantas. Además analizamos las comunidades bacterianas del cepellón a distintos tiempos después de iniciar procesos de fitocorrección, para analizar cambios en estas comunidades y su relación con variaciones en el fraccionamiento metálico y otras alteraciones químicas del suelo durante el tratamiento.



Fig. 1. *Alyssum serpyllifolium* spp. *lusitanicum* en la zona serpentinitica de Barazón (A Coruña).

PROYECTOS VIGENTES

Actualmente los proyectos en los que estamos implicados son *Gentle remediation of trace element contaminated land* (GREENLAND, 2011-2014), financiado por la Unión Europea, *Desarrollo de tecnologías sostenibles para la recuperación de suelos degradados por contaminación* (CTM2012-39904-C02-01, 2013-2015) financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, y *Recuperación de suelos contaminados aprovechando plantas metalófitas endémicas de la Península Ibérica* (2013), financiado por la Fundación MAPFRE.

PUBLICACIONES RECIENTES

- Kidd PS, Prieto-Fernández A, Monterroso MC, Acea MJ. (2008). Rhizosphere microbial community and hexachlorocyclohexane degradative potential in contrasting plant species. *Plant Soil* 302: 233-247.
- Becerra-Castro C, Monterroso MC, García-Leston M, Prieto-Fernández A, Acea MJ, Kidd PS. (2009). Rhizosphere microbial densities and trace metal tolerance of the nickel hyperaccumulator *Alyssum serpyllifolium* subsp. *lusitanicum*. *Int J Phytoremediat* 11: 525-541.
- Kidd P, Barceló J, Bernal MP, Navari-Izzo F, Poschenrieder C, Shileve S, Clemente R, Monterroso C. (2009) Trace element behaviour at the root-soil interface: Implications in phytoremediation. *Environ Exp Bot* 67: 243-259
- Becerra-Castro C, Kidd PS, Prieto-Fernández A, Weyens N, Acea MJ, Vangronsveld J. (2011). Plant-associated bacteria of *Cytisus striatus* growing on hexachlorocyclohexane-contaminated soils. *Plant Soil* 340: 413-433.
- Becerra-Castro C, Prieto-Fernández A, Alvarez-Lopez V, Monterroso C, Acea MJ, Kidd PS. (2011). Nickel solubilising capacity of rhizobacteria isolated from hyperaccumulating and non hyperaccumulating subspecies of *Alyssum serpyllifolium*. *Int J Phytoremediat* 13: 229-244.
- Becerra-Castro C, Monterroso C, Prieto-Fernández A, Rodríguez-Lamas L, Loureiro-Viñas M, Acea MJ, Kidd PS. (2012). Pseudo-metallophytes colonising Pb/Zn mine tailings: a description of the plant-microorganism rhizosphere soil system and isolation of metal-tolerant bacteria. *J Hazard Mater* 217-218: 350-359.
- Becerra-Castro C, Kidd PS, Rodríguez-Garrido B., Touceda-González M, Prieto-Fernández A, Weyens N, Vangronsveld J. (2013). Improving plant growth on substrates contaminated with hexachlorocyclohexane isomers. *Plant Soil* 362: 247-260.
- Cabello-Conejo MI, Centofanti T, Kidd PS, Prieto-Fernández A, Chaney RL. (2013). Evaluation of plant growth regulators to increase Ni phytoextraction by *Alyssum* species. *Int J Phytoremediat* 15: 365-375.
- Becerra-Castro C, Kidd PS, Rodríguez-Garrido B, Monterroso C, Santos-Ucha P, Prieto-Fernández A. (2013). Phytoremediation of hexachlorocyclohexane (HCH)-contaminated soils using *Cytisus striatus* and bacterial inoculants in soils with distinct organic matter content. *Environ Pollut* 178: 202-210.
- Sessitsch A, Kuffner M, Kidd P, Vangronsveld J, Wenzel WW, Fallmann K, Puschenreiter M. (2013). The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biol Biochem* 60: 182-194.
- Becerra-Castro C, Kidd P, Kuffner M, Prieto-Fernández A, Hann S, Monterroso C, Sessitsch A, Wenzel W, Puschenreiter M. (2013). Bacterial-induced weathering of ultramafic rock: implications in phytoextraction. *Appl Environ Microb*, (en prensa).

Grupo de Ecología Microbiana y Geomicrobiología del sustrato lítico

Carmen Ascaso, Jacek Wierzchos, Sergio Pérez-Ortega y Asunción de los Ríos
Departamento de Biología Ambiental, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC),
C/Serrano 115 dpdo., 28006 Madrid

El origen de nuestro grupo se remonta a la mitad de los años setenta cuando ya publicábamos trabajos sobre la alteración de las rocas por líquenes y la formación de nuevos minerales como consecuencia de este proceso. Desde entonces, la alteración de materiales rocosos por líquenes y microorganismos ha constituido uno de los objetivos de nuestro trabajo diario, con la lógica evolución que a lo largo de los años tiene todo trabajo científico, a medida que se va adquiriendo más experiencia y nuevos conocimientos. Se puede afirmar que la investigación en los temas de biodeterioro de nuestro grupo, comenzó en el año 1990, cuando se participó en un equipo liderado por el Ministerio

de Cultura para el estudio de la alteración de los capiteles del Monasterio de Silos. Durante dicho trabajo, conocimos a los investigadores que hoy son colegas del grupo IGEO-CSIC y del laboratorio de Petrofísica RedLab n.º 217, en el programa Geomateriales-Conservación del Patrimonio. Posteriormente la Prof. Ascaso y el Dr Wierzchos desarrollaron la denominada «técnica SEM-BSE» la cual permite analizar la microbiota litobiótica sin separarla de la muestra lítica y así poder determinar concretamente los efectos de los microorganismos sobre la piedra (ver De Los Ríos & Ascaso, 2005; Figura 1). En 1998, aplicando esta técnica, se hizo frente al estudio de los procesos de biodeterioro en